

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-257720

(43)Date of publication of application : 11.09.2002

(51)Int.Cl.

G01N 21/27
G01N 27/416
// G01N 33/543

(21)Application number : 2001-061494

(71)Applicant : NIPPON TELEGR & TELEPH CORP <NTT>

(22)Date of filing : 06.03.2001

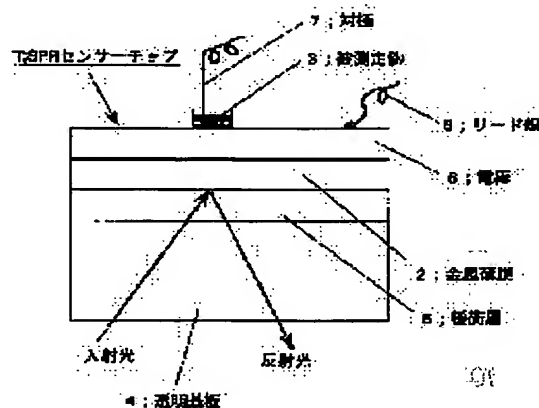
(72)Inventor : IWASAKI GEN
NIWA OSAMU

(54) METHOD FOR SPR MEASUREMENT USING FUNCTIONAL MATERIAL ELECTRODE, AND SPR SENSOR CHIP

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To allow an electrode optimum to an electrochemical action for a measured object to be selected, and allow selection for a metal thin film optimum to measure an SPR phenomenon.

SOLUTION: This method includes a process effecting the electrochemical action onto the measured object 3, using an SPR sensor chip provided with the functional electrode 6 contacting with the measured object 3 and effecting the electrochemical action onto the measured object by impressing a voltage, on the metal thin film 2 generating a surface plasmon resonance phenomenon, and using the electrode therefor, and a process for measuring the surface plasmon resonance phenomenon. Since the electrode for conducting the electrochemical action, and the metal thin film for generating the SPR phenomenon are provided separately, the electrode optimum to the electrochemical action for the measured object is selected, and the metal thin film is selected to optimize the measurement of the SPR phenomenon.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

BEST AVAILABLE COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Japanese Unexamined Patent Publication
No. 257720/2002 (*Tokukai 2002-257720*)

A. Relevance of the Above-identified Document

The following is a partial English translation of exemplary portions of non-English language information that may be relevant to the issue of patentability of the claims of the present application.

B. Translation of the Relevant Passages of the Document

See also the attached English Abstract.

[CLAIMS]

[CLAIM 3]

...metallic thin film of the SPR sensor chip is made of gold or silver, ...

[CLAIM 5]

The SPR sensor chip according to claim 4, wherein:
the metallic thin film is made of gold or silver.

[CLAIM 7]

...A thickness of the metallic thin film is 20 to 50 nm, a thickness of the functional electrode made of platinum is not more than 20 nm, and a thickness of the functional electrode made of gold is not more than 10 nm.

[CLAIM 8]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

The SPR sensor chip according to any one of claims 4 through 7, wherein:

the electrode is formed by any of the following methods: vapor-deposition, sputtering, arcing, electrolytic polymerization, and electrolytic reduction.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2002-257720
(P2002-257720A)

(43) 公開日 平成14年9月11日 (2002.9.11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト* (参考)
G 0 1 N 21/27		G 0 1 N 21/27	C 2 G 0 5 9
27/416		33/543	5 9 5
// G 0 1 N 33/543	5 9 5	27/46	U

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願2001-61494 (P2001-61494)

(22) 出願日 平成13年3月6日 (2001.3.6)

(71) 出願人 000004226

日本電信電話株式会社

東京都千代田区大手町二丁目3番1号

(72) 発明者 岩崎 弦

東京都千代田区大手町二丁目3番1号 日

本電信電話株式会社内

(72) 発明者 丹羽 修

東京都千代田区大手町二丁目3番1号 日

本電信電話株式会社内

(74) 代理人 100082717

弁理士 雨宮 正季

Fターム(参考) 2G059 AA01 AA05 BB12 CC16 EE02

GG00 HH01 HH02 HH06 KK01

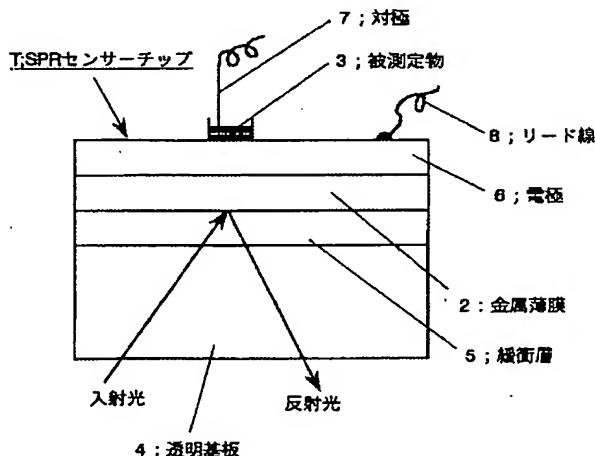
(54) 【発明の名称】 機能性材料電極を用いるSPR測定法およびSPRセンサーチップ

(57) 【要約】

【課題】 被測定物の電気化学的作用に最適の電極を選択することができ、かつSPR現象に測定に最適な金属薄膜を選択可能であるとする。

【解決手段】 表面プラズモン共鳴現象を起こす金属薄膜2上に、被測定物3に接触し、かつ電圧を印加することにより前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす機能性電極6を設けたSPRセンサーチップおよびその前記電極を使用して前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす工程、前記金属薄膜側より光を入射し、表面プラズモン共鳴現象を測定する工程を含む方法である。

【効果】 電気化学的作用を行う電極とSPR現象を生じさせる金属薄膜を別個に設けているため、被測定物の電気化学的作用に最適の電極を選択することができ、かつSPR現象に測定に最適な金属薄膜を選択可能である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】表面プラズモン共鳴現象を起こす金属薄膜上に、被測定物に接触し、かつ電圧を印加することにより前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす機能性電極を設けたSPRセンサーチップの前記電極を使用して前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす工程、前記金属薄膜側より光を入射し、前記被測定物が前記電気化学反応によって生じた屈折率変化の影響を受けた表面プラズモン共鳴現象を測定する工程を含むことを特徴とする機能性材料電極を用いるSPR測定法。

【請求項2】前記入射する光は、可視光または近赤外線であることを特徴とする請求項1記載の機能性材料電極を用いるSPR測定法。

【請求項3】前記SPRセンサーチップの金属薄膜は金または銀であり、前記電極は前記金属薄膜を露出するようなホールを有し、前記ホールによって露出した金属薄膜上に酸化還元基を有する分子を分散して配置することを特徴とする請求項1または2記載のSPR測定法。

【請求項4】表面プラズモン共鳴現象を起こす金属薄膜上に、被測定物に接触し、かつ電圧を印加することにより前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす機能性電極を積層したことを特徴とするSPRセンサーチップ。

【請求項5】前記金属薄膜は、金または銀であることを特徴とする請求項4記載のSPRセンサーチップ。

【請求項6】前記金属薄膜の少なくとも一部が露出するように電極が設けられていることを特徴とする請求項5記載のSPRセンサーチップ。

【請求項7】前記金属薄膜の厚さは20～50nmであり、機能性電極の厚さは白金の場合20nm以下、金の場合10nm以下、炭素の場合、最低反射率が0.5以下であることを特徴とする請求項5または6記載のSPRセンサーチップ。

【請求項8】前記電極を蒸着法、スパッタ法、アーク放電法、電解重合法、電解還元法のいずれかで形成したことを特徴とする請求項4から7記載のいずれかのSPRセンサーチップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は機能性材料電極を用いるSPR測定法およびSPRセンサーチップ、さらに詳細には、金属薄膜に電気化学作用を持つ物質の層を形成し、電気化学的に作用を起こりやすくした電極で起こる反応を表面プラズモン共鳴法で測定する方法およびその測定法に使用するSPRセンサーチップに関する。

【0002】

【従来の技術】光を全反射させ、その反射面に染み出すエバネッセント光を利用する光測定技術は、広く研究され応用されている。特に反射面に金、銀等の薄膜を使い、光によって表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPRと略記す

る)を起こす光学系を用いて高感度に、入射光と反対側の光学的厚み、又は屈折率を測定するセンサーはSPRセンサーと呼ばれ販売されている。

【0003】SPRセンサーは、金や銀などの金属薄膜から数百nmの範囲の屈折率変化を検出でき、表面での光学特性の違いを測定するのに便利である。実際の測定では、光を試料の反対面から臨界角以上で入射し、エバネッセント波と表面プラズモンとが共鳴する角度を測定する。測定の光学系を図4に示す。

10 【0004】単色光源から出た光をプリズム1に入射し、プリズム1の底部に屈折率を合わせるための材料(マッチングオイル; 図示せず)を介して金属薄膜2を備えたセンサーチップTを配置し、被測定物3が接触した金属薄膜2に全反射の条件下で照射する。前記金属薄膜2側に生じるエバネッセント波と表面プラズモン波は、ある入射角で共鳴が起こり、光検出器で反射光の強度を測定すると図5に示す様に共鳴が起こる角度で、反射率の低い谷が観測される。

20 【0005】共鳴が起こる角度は、表面の光学的な性質(屈折率)に依存するため、たとえば、抗原-抗体反応で表面に分子が結合すると、表面の屈折率が変化し、谷の現れる角度が僅かに変化する。この経時変化を測定することにより、表面の分子の相互作用を高感度にモニターすることができる。

30 【0006】または入射角度を変えるかわりに照射する光の波長を変えることによって、SPR現象が起こる波長から被測定物の光学的性質を知ることができる。この性質を利用してSPRセンサーは、抗原-抗体反応を利用した免疫センサーやDNAの検出、レセプターとタンパク質の相互作用などの検出に応用されつつある。

40 【0007】このSPRセンサーでは表面プラズモンの媒体の金属薄膜として金薄膜がよく用いられる。金薄膜が電気化学的に用いられる電極材料としても優れていることから、電気化学的作用によって生じる屈折率の変化を指標に用いるセンサーを作ることができる。例えば、蒸着法またはスパッタ法を用いて図6のような構造の金電極を有するSPRセンサーチップTが製造されている。すなわちガラスなどの透明基板4上にSPR現象を生じる金の金属薄膜(電極を兼用する)2を設けたSPRセンサーチップTである。

50 【0008】しかし、光源を安価に得ることができる、可視または近赤外領域の波長ではSPRを起こすことができる電極材料(金属薄膜材料)が金または銀に限られることから、電気化学的作用を持つ金や銀以外の電極を反応に応じて選択することができなくなる。例えば、多くのアミン類では炭素電極が活性であることが知られている。また、過酸化水素の酸化反応や、多くの触媒的反応では、白金電極が優れていることが知られている。さらに、SPR測定のためには金よりも銀の方が優れているが、電気化学測定のためには銀よりも金のほうが安定

であることが知られている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上述の問題点に鑑みなされたものであり、SPRセンサーのSPR現象を起こす金属で同時に電気化学的作用を起こし、その結果生じる屈折率の変化を測定する場合に、SPR現象を起こす材料が、電気化学反応に最適な材料ではない場合がある。このため、センサーの感度を高くすることができない、分子選択性が損なわれるなどの問題があった。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するため、本発明による機能性材料電極を用いるSPR測定法は、表面プラズモン共鳴現象を起こす金属薄膜上に、被測定物に接触し、かつ電圧を印加することにより前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす機能性電極を設けたSPRセンサーチップの前記電極を使用して前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす工程、前記金属薄膜側より光を入射し、前記被測定物が前記電気化学反応によって生じた屈折率変化の影響を受けた表面プラズモン共鳴現象を測定する工程を含むことを特徴とする。

【0011】また、本発明によるSPRセンサーチップは、表面プラズモン共鳴現象を起こす金属薄膜上に、被測定物に接触し、かつ前記電圧を印加することにより前記被測定物に電気化学的作用を及ぼす電極を積層したことを特徴とする。

【0012】SPR作用を持つ金属材料の表面に電気化学的に機能性が高い電極を積層することによりSPR現象の観測を可能にしつつ、SPR作用を持つ金属薄膜の電気化学的作用を示さず、積層した電極の電気化学的作用を示す構造を作ることができることを思いつき、種々の積層形態の検討を行ったところ、特に生体物質の測定に有効な機能性電極材料の電気化学的作用を持ち、同時にSPR現象の観測が可能であることを見出し本発明に至った。すなわち、本発明においては、被測定物に接触し、電気化学作用を及ぼして、被測定物の屈折率を変化させる電極と、光を入射してSPR現象を生じさせる金属薄膜を別個のものとしたことを大きな特徴としている。

【0013】また積層する機能性電極の積層を形態を調節することにより金属薄膜が部分的に露出し単独の電極材料では得られない性質を有することを特徴とする。

【0014】本発明をさらに詳しく説明すると、図1は本発明のSPRセンサーチップの一実施例の断面図であるが、この図より明らかなように、透明ガラスあるいは透明なプラスチックの透明基板4上に緩衝層5を介してSPR共鳴現象を起こす金属薄膜2を積層するとともに、前記金属薄膜2と直接接合して電極6を設けた構造になっている。この緩衝層5は透明基板4と金属薄膜2の接着性を改良するためのものであり、必ずしも必要で

はない。

【0015】前記金属薄膜2は、好ましくは金または銀である。安価な光源である可視光あるいは近赤外線を使用することが可能であるからである。

【0016】この金属薄膜2が金または銀の場合の厚さは、SPR現象による反射光の現象が確認しやすい20～50nmであるのがよい。20nm未満であると、SPRによる反射率現象が広い角度で起こり、SPR現象が起こる角度を決定するのが困難となるおそれがある。一方、50nmを越えると、SPR現象による最低反射率が高くなり、SPR現象の起こる角度を決定するのが困難になる恐れがある。

【0017】この金属薄膜2上に、被測定物3と接触し、電圧を印加することによって電気化学的作用を及ぼす電極6は、本発明において基本的に限定されるものではない。前記被測定物3に応じて機能的に定めることができる。たとえば、触媒の反応を行う物質の測定では白金が好ましく、アミン類を測定する場合には炭素であるのが好ましい。

【0018】この電極6の厚さは、金属薄膜として金または銀を使用し、電極が白金のときには、20nm以下であるのがよい。これより厚いと、SPRによる反射率減少が広い角度で起こり、SPR現象の起こる角度を決定するのが困難になる恐れがある。金属薄膜として金または銀を使用し、電極が炭素のときには、SPR減少による最低反射率が0.5以下になるのが好ましい。同様に、SPR現象の起こる角度を決定するのが困難になるおそれがあるためである。金属薄膜として銀を使用し、電極が金のときには、銀は20nm以上50nm以下が、金は10nm以下が好ましい。この範囲外では同様にSPR現象の起こる角度を決定するのが困難になる恐れがある。

【0019】上述のような電極は蒸着法、スパッタ法、アーク放電法、電解重合法、電解還元法などの方法により形成することができる。

【0020】このようなSPRセンサーチップを使用して、被測定物3をSPR測定する場合、前記電極6に被測定物3を接触させ、前記被測定物3中に挿入された対極7と前記電極6間に電圧を印加して、前記被測定物3に電気化学的作用を及ぼさせる。この工程に次いで、あるいは同時に、前記透明基板4方向より、光を入射して、前記金属薄膜2により反射した出射光を光検出器（図示せず）によって検出し、電気化学的作用の結果、前記被測定物3に生じた屈折率変化を測定する。

【0021】このような方法によれば、電気化学的作用を行う電極6とSPR現象を生じさせる金属薄膜2を別個に設けているため、被測定物3の電気化学的作用に最適な電極6を選択することができ、かつSPR現象に測定に最適な金属薄膜2を選択可能である。

【0022】

【実施例】以下に本発明を実施例により詳細に説明する。なお、本発明は以下の実施例のみに限定されるものではない。

【0023】

【実施例1】白金電極を有するSPRセンサーチップTを図1を参照して説明する。松浪硝子工業社製の厚さ0.18mmのカバーガラス（ガラスの材質はBK7）の透明基板4に日本シード研究所社製のスバッタ装置を用いて、チタン（緩衝層）5を5nm、金（金属薄膜）2を45nm、白金（電極）6を10nm積層した。

【0024】チタン（緩衝層）は金とガラス基板の接着を強化するために用いた。透明基板は、前述のようにガラス以外に透明なプラスチック材料を用いることもできる。このSPRセンサーチップの白金（電極）6にリード線8を取り付けて、扶桑製作所製のポテンシオスタットHECS990を用いて、対極7との間で電気化学測定を行った。被測定物3であるグルコース10mMを含む0.1Mリン酸バッファー（PH7）でのサイクリックボルタモグラムを図2に示す。

【0025】この図から下地金属の金の電気化学的性質は見られず、積層最上部の白金電極の電気化学的性質だけが見られることがわかる。特に、金電極ではグルコースの触媒的酸化作用が知られているが、図2では全くこの作用が見られず、電気化学測定では、SPRセンサーチップは白金電極として作用していることがわかる。このSPRセンサーチップをDKK社製のSPR測定装置SPR20に装着し、電気化学測定と同時に入射角度と反射率の関係を測定した結果、図3を得た。図3の反射率の急峻な現象はSPR現象であり、電気化学的に白金電極の作用を持ち、SPR現象測定では金の作用を持つSPRセンサーチップでSPR測定ができることがわかった。

【0026】

【実施例2】金をスバッタしたSPRチップを作製した後、アーク放電法で、金の表面に炭素の層を10nm形成した。実施例1と同様の方法によって、このSPRセンサーチップの電気化学的性質を調べたところ、金電極の性質を示さず、炭素電極としての性質を示した。特に、カテコールアミンの反応電流が金電極に比べて大きくなり、炭素電極の有機物に対する反応性を有するSPRセンサーチップであることがわかった。

【0027】さらに、実施例1と同様に、この炭素積層SPRセンサーチップのSPR測定を行ったところ、市販のSPR測定装置で十分にSPR測定を行うことができ、電気化学的に炭素電極でありながら、光吸収が大きくSPR測定が困難と思われる炭素でも、SPR測定用の金薄膜を有する構造にすることによって、電気化学測定とSPR測定が同時にできることがわかった。

【0028】

【実施例3】実施例1と同様な方法で、白金を金上にス

バッタした。白金の厚さは、スバッタ装置で制御可能な、最低の厚さとした。この白金の電極はスバッタ装置で制御可能な最低の厚さであるため、金が一部露出した表面状態になっていた。この電極上に同仁化学社製の11フェロセニル1ウンデカチオールを化学吸着させた。この場合、酸化還元基を有する11フェロセニル1ウンデカチオールは金に選択的に多く吸着されることになる。

【0029】この電極上に、シグマ社製の西洋わさび由来パーオキシデース（HRP）を含む膜を形成した。この電極で、電気化学測定を行ったところ、白金薄膜（電極）が全く無いときに比して、HRPと電極との間で良好な反応性が得られた。

【0030】これは11フェロセニル1ウンデカチオールが白金の存在のために分散して吸着し、11フェロセニル1ウンデカチオールが密に吸着するために起こるHRPと11フェロセニル1ウンデカチオール間の電子移動反応の低下を防ぐ効果のためである。さらにHRPの基質である過酸化水素の存在下では過酸化水素濃度に比例した電流が得られ、過酸化水素の定量ができた。また、同時に行ったSPR測定では、フェロセニル基の酸化還元反応に伴う屈折率の変化を検出することができ、SPR測定でも過酸化水素の測定ができた。

【0031】

【実施例4】実施例1と同様な方法で、金を銀上にスバッタした。銀の厚さは40nm、金の厚さは5nmとした。また、光源の波長はSPR測定装置SPR20を改造して400nmとした。このSPRチップを用いて、50mM硫酸中でサイクリックボルタメトリーによる電気化学測定を行ったところ、安定して金電極としての性質をしめす電流が観測された。また、同時に行ったSPR測定では、SPR現象に基づく明瞭な反射率最小値が観測され、SPR測定が400nmの光源でも可能であることがわかった。一方、金だけのSPRチップでは、400nmの光源を用いるとSPR現象による反射率極小値が不明瞭でSPR測定を行うことができなかった。

【0032】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば、電気化学的作用を行う電極とSPR現象を生じさせる金属薄膜を別個に設けているため、被測定物の電気化学的作用に最適な電極を選択することができ、かつSPR現象に測定に最適な金属薄膜を選択可能である。このため、安価な光源を使用して、種々の被測定物について、精度よく、電気化学的測定とSPR現象測定を行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるSPRセンサーチップの断面図。

【図2】実施例1のグルコース10mMを含む0.1Mリン酸バッファー（PH7）を測定して得られたサイクリックボルタモグラムを示す図。

【図3】実施例1のSPR測定の入射角度と反射率の関係を測定した結果を示す図。

【図4】SPR現象測定方法を説明する説明図。

【図5】SPR測定の入射角度と反射率の関係を測定した結果を示す図。

【図6】従来のSPRセンサーチップの断面図。

【符号の説明】

1 プリズム

* T

金属薄膜

被測定物

透明基板

緩衝層

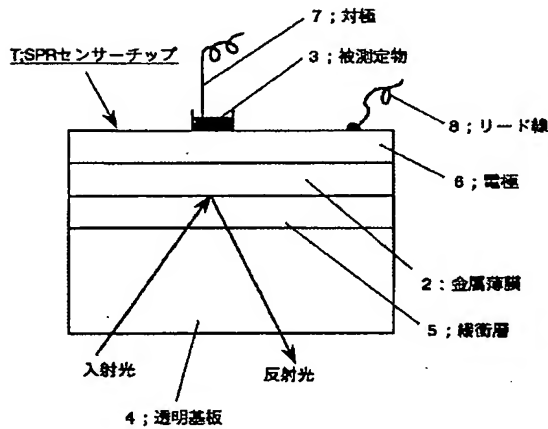
電極

対極

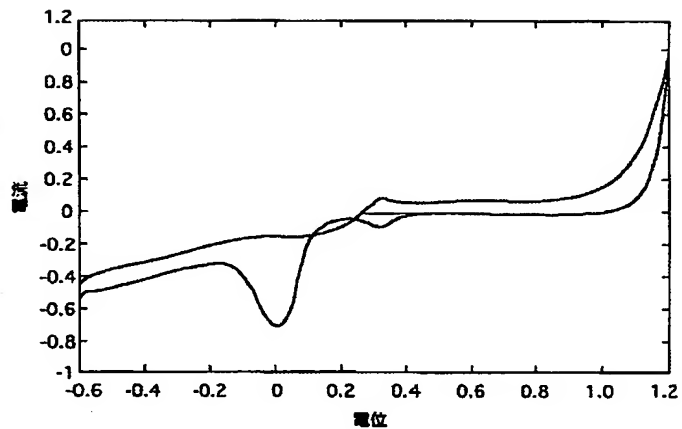
リード線

SPRセンサーチップ

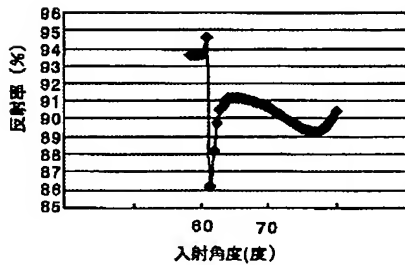
【図1】



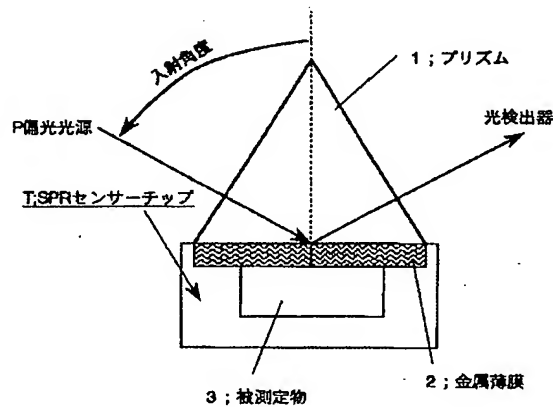
【図2】



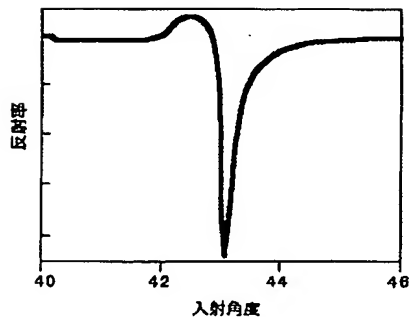
【図3】



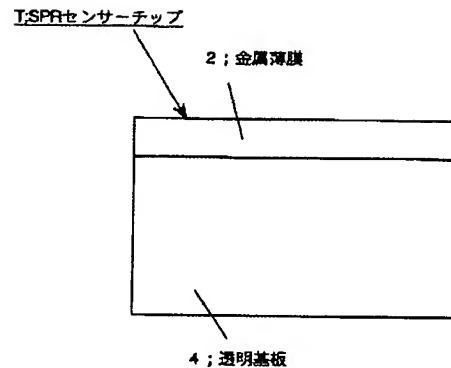
【図4】



【図5】



【図6】



【手続補正書】

【提出日】平成13年3月6日(2001. 3. 6)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正内容】

【0018】この電極6の厚さは、金属薄膜として金または銀を使用し、電極が白金のときには、20nm以下であるのがよい。これより厚いと、SPRによる反射率減少が広い角度で起こり、SPR現象の起こる角度を決

定するのが困難になる恐れがある。金属薄膜として金または銀を使用し、電極が炭素のときには、SPR現象による最低反射率が0.5以下になるのが好ましい。同様に、SPR現象の起こる角度を決定するのが困難になるおそれがあるためである。金属薄膜として銀を使用し、電極が金のときには、銀は20nm以上50nm以下、金は10nm以下が好ましい。この範囲外では同様にSPR現象の起こる角度を決定するのが困難になる恐れがある。